

Contribution à l'étude de l'Aérosolthérapie en Médecine Canine et Féline

Etude toxicologique, pharmacologique et clinique
d'un nouveau support d'Aérosol
à base de Supérinone

THÈSE

présentée à la

FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON
et soutenue publiquement le 7 juin 1963
pour obtenir le grade de DOCTEUR-VÉTÉRINAIRE

par

M^{lle} Michèle PELLERIN

née le 10 septembre 1938 à Marseille (B.-du-Rh.)



CONTRIBUTION à L'ÉTUDE de l'AÉROSOLTHÉRAPIE
en MÉDECINE CANINE et FÉLINE

ÉTUDE TOXICOLOGIQUE, PHARMACOLOGIQUE et CLINIQUE
d'un NOUVEAU SUPPORT D'AÉROSOL à base de SUPÉRINONE

Contribution à l'étude de l'Aérosolthérapie en Médecine Canine et Féline

Etude toxicologique, pharmacologique et clinique
d'un nouveau support d'Aérosol
à base de Supérinone

THÈSE

présentée à la

FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 7 juin 1963

pour obtenir le grade de DOCTEUR-VÉTÉRINAIRE

par

M^{lle} Michèle PELLERIN

née le 10 septembre 1938 à Marseille (B.-du-Rh.)





PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur	M. le Professeur	R. FLORIO
Directeur honoraire	M. le Professeur	L. JUNG
Professeur honoraire		M. CUNY

PROFESSEURS

Physique, Chimie, Pharmacie, Toxicologie	M. TAPERNOUX
Anatomie descriptive, Anatomie appliquée	M. BARONE
Physiologie, Thérapeutique, Pharmacodynamie	M. BOST
Histologie, Embryologie, Anatomie pathologique	M. LUCAM
Hygiène et industrie des aliments d'origine animale	M. FLACHAT
Zoologie appliquée, Parasitologie externe, Parasitologie interne	M. EUZEBY
Pathologie médicale des équidés et des carnivores, Législation vétérinaire	M. FLORIO
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	M. COTTEREAU
Technique chirurgicale, Pathologie chirurgicale	M. COLLET
Obstétrique, Pathologie de la reproduction	M. BERTRAND
Microbiologie, Immunologie, Maladies contagieuses, Police sanitaire	M. JOUBERT
Ethnologie, Hygiène, Zootechnie, Economie rurale	M. FROGET
Botanique appliquée, Agronomie, Alimentation	M. JEAN-BLAIN

CHEFS DE TRAVAUX

MM. MAGAT, FERNEY, RUCKEBUSCH, Agrégés.
MM. BUSSIERAS, OUDAR, LAPRAS, LE NIHOUANNEN.

EXAMINATEURS DE THÈSE

Président : M. le Professeur MONNET, de la Faculté de Médecine.
Premier Assesseur : M. le Professeur JOUBERT, de l'Ecole Vétérinaire.
Deuxième Assesseur : M. le Professeur FLACHAT, de l'Ecole Vétérinaire.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.

A MES PARENTS

Qu'ils trouvent dans ce travail l'expression
de mon affection et de ma reconnaissance pour
tous les sacrifices qu'ils se sont imposés pour
moi.

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MONNET
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon

Qui a bien voulu nous faire l'honneur de
présider ce Jury de Thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JOUBERT

de l'Ecole Vétérinaire de Lyon

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse.
Nous lui exprimons notre reconnaissance pour
la bienveillance qu'il nous témoigne.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR FLACHAT

Hommage à la qualité de son enseignement.

AVANT-PROPOS

Dans les différents travaux traitant de l'aérosolthérapie en médecine vétérinaire, le problème du support de l'aérosol médicamenteux a été pratiquement passé sous silence. C'est pourquoi il nous a paru intéressant d'étudier sur le plan toxicologique, pharmacologique et clinique un support d'aérosol encore inédit, à base de supérinone et enregistré au laboratoire de Bactériologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire sous le n° 6118.

La *toxicité* de ce support sera successivement étudiée

- Dans son aspect primaire (aigu et chronique),
- Dans son aspect second, c'est-à-dire dans sa fonction antigène éventuelle ainsi que dans son pouvoir anaphylactogène.

L'étude pharmacologique : pouvoir pro-infectieux, broncho-sécréteur, bronchostricteur, hémolytique, leucolytique, mucolytique, permettra de prévoir les utilisations thérapeutiques.

L'étude clinique enfin, c'est-à-dire l'administration d'aérosols à des animaux atteints de diverses maladies respiratoires, nous permettra de dégager les limites et les modes d'administration de l'alevaire forte soit isolément, soit conjointement à des antibiotiques.

Ce produit, fabriqué par les Laboratoires WINTHROP (Paris) et dénommé « Alevaire forte », nous a été très obligeamment fourni pour nos expériences par M. le Docteur LUMBROSO à qui nous exprimons ici toute notre vive gratitude.

DÉFINITION - COMPOSITION

L'Alevaire forte, préparation de supérinone à 1,25 pour 100, est une solution détergente, mucolytique ayant pour but de *fluidifier et humidifier les sécrétions bronchiques*.

Composition

L'Alevaire forte contient les substances suivantes :

Supérinone	1,25 g
Glycérol	3,00 g
Bicarbonate de sodium.....	2,00 g
Eau distillée q.s.p.	100 ml

Il s'agit donc d'une solution aqueuse, additionnée de glycérol et de bicarbonate de sodium, de SUPÉRINONE, conditionnée en flacons de 20 ml.

Le GLYCÉROL a pour but de fixer le produit sur les muqueuses.

Le BICARBONATE DE SODIUM crée un milieu alcalin propice à la liquéfaction du mucus.

Formule de la supérinone, principe actif de l'Alevaire forte. :



Il s'agit d'un alkylarylphénol polyéther, polymère de condensation de l'octylphénol tertiaire, du formaldéhyde et de l'oxyde d'éthylène copolymérisés.

Propriétés physiques

C'est un liquide visqueux, ambré, à légère turbidité et à odeur légèrement aromatique. Il est soluble lentement dans l'eau et dans de nombreux solvants organiques.

PREMIERE PARTIE

ÉTUDE TOXICOLOGIQUE

Les recherches toxicologiques ont porté sur deux domaines différents :

CHAPITRE I. — *La toxicité primaire :*

- 1) *aiguë* par différentes voies et sur diverses espèces animales ;
- 2) *chronique* par différentes voies et sur espèces animales.

CHAPITRE II. — *La toxicité secondaire concernant*

- 1) le *pouvoir antigène et immunigène* sur le lapin ;
- 2) le *pouvoir anaphylactogène et allergène* chez le cobaye.

CHAPITRE PREMIER

TOXICITÉ PRIMAIRE

I. - TOXICITÉ AIGUË

Principe

L'*Alevaire forte*, support d'aérosols dans la thérapeutique des affections respiratoires, doit essentiellement se montrer inoffensive à fortes doses par les voies conjonctivales nasales, bronchiques et digestives. En outre, pour une meilleure sécurité, le produit doit montrer son innocuité par les voies cutanées, sous-cutanées, intramusculaire, intrapéritonéale et intraveineuse.

L'aspect qualitatif des expériences doit être éventuellement complété par une appréciation *quantitative* avec détermination de la dose mortelle à 50 % (DL 50) pour telle espèce et telle voie d'introduction.

Matériel

Les *animaux* révélateurs ont été choisis parmi les espèces les plus diverses : souris (30 g), cobayes (250 à 500 g), lapins (2 kg), hamsters (300 g), furets (1 kg), chiens (5 à 25 kg), chats (3 kg), porcs (30 kg), vaches (700 kg), singes (babouins *Papio papio*) de 3 kg.

La *substance* a été utilisée *pure* dans les expériences qualitatives. En outre, deux témoins ont été utilisés afin de départager la responsabilité de la toxicité éventuelle parmi les 2 composants de l'*Alevaire forte*, d'où l'adoption d'un protocole commun vis-à-vis de 3 substances simultanément :

- *Alevaire forte*, produit fini.
- Témoin solution du corps actif : supérinone à 1,25 %.
- Témoin diluant : glycérol 5 % + bicarbonate de soude 1 %.

Opérations

Les inoculations se sont adressées à toutes les voies principales classiquement utilisées :

1) VOIE CONJONCTIVALE, par dépôt de 1 à 3 gouttes d'Alevaire forte sur la conjonctive de 5 souris, 5 cobayes, 5 lapins, 5 hamsters, 2 furets, 2 chiens, 3 chats, 2 porcs, 2 vaches, 2 singes.

2) VOIE NASALE par vaporisation prolongée (1 à 10 minutes) de grosses particules ($100\ \mu$ environ de diamètre) dans les cavités nasales de 5 souris, 5 cobayes, 5 hamsters, 2 furets (après anesthésie légère pour éviter les réflexes de rejet), 2 chiens, 3 chats, 2 porcs, 2 vaches, 2 singes (sans anesthésie).

3) VOIE BRONCHIQUE, dans une chambre en acier hermétiquement close à métabolisme (type Atwater et Bénédic) pour grands animaux, de dimensions $2,50\text{ m} \times 2\text{ m} \times 2,50\text{ m}$, soit environ 18 m^3 , obturée par une porte hermétique à vis et percée de deux hublots d'observation. La solution d'Alevaire forte et les deux solutions témoins ont été aérosolisées grâce à un appareil commercial Phagogène (Nikel, 49, rue Dalray, Nice) « Hygiénic N.C. », sous contrôle du Ministère de la Santé Publique et de la Population n° 209, avec réchauffeur à 45° C à ailettes et diffusant des particules de $1\ \mu$ de diamètre moyen (contrôle sur le spectre granulométrique du brouillard émis par ce générateur effectué par le Laboratoire National d'essais du Conservatoire des Arts et Métiers sous le n° 140348 le 8 septembre 1960).

- Le temps de vaporisation a été de 3 heures sans interruption ni aération.
- L'ensemble des animaux en expérience était enfermé dans la chambre, soit : 30 souris, 10 cobayes, 10 hamsters, 2 furets, 2 chiens, 2 chats, 1 porc, 1 vache, 2 singes. En outre, un homme de 40 ans, 1,70 m, 72 kg, est demeuré pendant la dernière heure dans l'enceinte, à la concentration maximum en aérosols.

4) VOIE DIGESTIVE par ingestion forcée, à la sonde :

- à 5 souris, 5 cobayes, 5 lapins, 5 hamsters, 2 furets (sonde recourbée représentée par une aiguille de plus ou moins grand diamètre sciée et coudée) à la dose, respectivement, de 2 ml, 5 ml, 10 ml, 5 ml, 15 ml.
- 2 chiens, 3 chats, 2 porcs et 2 singes (sonde pédiatrique pour sondage vésical) à la dose respectivement de 30 ml, 10 ml, 30 ml, 10 ml.
- à 1 cheval (sonde naso-œsophagienne) 100 ml.

5) VOIE CUTANÉE ET INTRADERMIQUE :

- par dépôt de quelques gouttes de produits sur la *peau rasée* et *épilée* de 5 souris, 5 cobayes, 5 lapins, 5 hamsters, 2 furets, 2 chiens, 3 chats, 1 porc, 1 singe et sur la mamelle d'une vache en lactation.
- par dépôt de quelques gouttes de produits sur des scarifications cutanées effectuées au bistouri jusqu'à la rosée sanguine.
- par inoculation intradermique de 0,2 ml à 5 cobayes.

6) VOIE SOUS-CUTANÉE et

7) VOIE INTRAMUSCULAIRE par inoculation de :

- 0,5 ml sur la peau et dans la cuisse de 5 souris,
- 1 ml sur la peau et dans la cuisse de 5 cobayes,
- 2 ml sur la peau et dans la cuisse de 5 lapins,
- 1 ml sur la peau et dans la cuisse de 5 hamsters,
- 2 ml sur la peau et dans la cuisse de 2 furets,
- 5 ml sur la peau et dans le droit interne de la cuisse de 1 chien,
- 2 ml sur la peau et à la face interne de la cuisse de 1 chat,
- 5 ml sur la peau et dans l'encolure de 1 vache.

8) VOIE INTRAPÉRITONÉALE par inoculation des mêmes doses du produit fini et des deux témoins à 5 souris, 5 cobayes, 5 lapins, 5 hamsters, 2 furets, 1 chien, 1 chat.

9) VOIE INTRAVEINEUSE par inoculation de :

- 0,5 ml dans la veine caudale de la souris, de 30 g,
- 1 ml dans la veine de la verge ou de l'avant-bras de 3 cobayes et dans le cœur de 2 cobayes (500 g),
- 2 ml dans la veine auriculaire de 3 lapins (2 kg),
- 5 ml dans la veine saphène de 1 chien.

L'enregistrement du tracé de la pression artérielle s'est effectué chez le lapin lors de l'appréciation du pouvoir broncho-sécréteur et bronchoconstricteur ou bronchodilatateur.

Résultats

1) QUALITATIFS :

Aux accidents ou incidents d'inoculation près par voie intracardiaque ou intraveineuse, l'Alevaire forte, la solution de supérinone à 1,25 % et la solution de glycérol à 5 % et de bicarbonate de soude à 2 % ne se sont montrées nullement toxiques, en particulier :

— *non phlogogène* par voies conjonctivale (ni conjonctivite ni mucopus dans l'angle nasal de l'œil), *nasale* (pas de jetage), *digestive* (pas de diarrhée), *cutanée* et *intradermique* (ni nodule inflammatoire ni nécrose), *sous-cutanée* ou *intramusculaire* (pas de rougeur, de chaleur, de douleur, de tumeur), *intrapéritonéale* (pas de péritonite ni d'orchivaginalite) ;

— *non choquante* par voie intraveineuse ou intracardiaque.

Ces résultats montrent l'innocuité parfaite de l'Alevaire forte par les diverses voies explorées chez les diverses espèces

animales en expérience, d'autant que les conditions expérimentales étaient d'une sévérité particulière tenant :

- à la saison froide (novembre et décembre) qui est toujours responsable d'un état de moindre résistance des animaux ;
- à la présence d'une hypovitaminose C chez le cobaye de l'élevage du laboratoire et d'une enzootie de pasteurellose chez le lapin ;
- à la jeunesse des singes en expérience, par ailleurs débilités par une température extérieure basse ;
- à la convalescence des porcs à la suite d'une sérovaccination contre la peste porcine à virus vaccin lapinisé et à celle d'un chien de maladie de Carré (séquelles nerveuses).

2) QUANTITATIFS :

La recherche de la DL 50 ne s'est effectuée par aucune voie.
En effet :

- l'absence de toxicité de l'Alevaire forte aux doses importantes de l'expérimentation qualitative constitue un résultat valable en soi ;
- elle laisse prévoir une toxicité à doses très élevées, où entrent en jeu surtout soit le volume très important de l'inoculat par rapport au poids des animaux, soit les phénomènes parasites de la respiration très prolongée en atmosphère très humide (degré hygrométrique 95 %).

II. - TOXICITÉ CHRONIQUE

Principe

La toxicité chronique a été appréciée à long terme (1 mois) par traitement itératif répété de la souris et du lapin sur l'animal lui-même et sur sa descendance par la voie bronchique et intraveineuse, avec pesée collective et statistique des animaux. En outre, les lapins en expérience pour l'appréciation de la toxicité secondaire ont servi de test de toxicité chronique.

Matériel

Les animaux comprennent 30 souris et 10 lapins.

Opérations

Les 30 souris ont été soumises à des aérosolisations d'une heure répétées tous les 3 jours, pendant 1 mois soit à 10 reprises.

3 d'entre elles ont mis bas une portée de 5 souriceaux en moyenne, 8 jours, 10 jours et 32 jours après la première aérosolisation.

3 lapins dont 2 lapines en gestation ont été placés dans les mêmes conditions.

3 lapins ont été inoculés à la dose de 1 ml par voie intraveineuse tous les 6 jours à 6 reprises.

Tous ces animaux ont été pesés chaque semaine.

Résultats

La morbidité et la mortalité nulle des animaux en expérience prouvent, dans les limites de cette expérience, l'absence de toxicité chronique de l'Alevaire forte.

Par ailleurs, l'augmentation de poids chez les témoins et chez les traités ne détermine pas de différence significative statistique, en particulier chez le lapin (885 g chez les témoins, 912 g chez les traités).

Ces expériences sont restreintes en raison de l'absence de toxicité aiguë du produit, de l'improbabilité d'une accumulation toxique dans l'organisme et des résultats favorables de l'expérimentation sur la toxicité secondaire du produit.

CHAPITRE II

TOXICITÉ SECONDAIRE

I. - POUVOIR ANTIGÈNE IMMUNIGÈNE SUR LE LAPIN

Principe

La toxicité secondaire pourrait comporter la formation d'anticorps vis-à-vis d'un produit à molécule suffisamment lourde pour supporter une fonction antigène. Le lapin constitue l'animal de choix pour ces expériences portant sur des polymères à molécule plus ou moins lourde, mais jamais comparable cependant à celles de protéines antigéniques (P.M. de quelques 1.000 contre P.M. de plusieurs 100.000 à 1.000.000 et davantage).

La révélation des anticorps s'est adressée à la méthode de la précipitation en milieu gélifié (technique de OUCHTERLONY), en admettant le principe de la présence éventuelle de précipitogène dans le produit.

Enfin, leur hyperimmunisation à recharges accélérées a été tentée (technique de LOISELEUR) afin de s'opposer à la suite rapide d'éventuels antigènes à plus petites molécules.

Matériel

Les animaux sont représentés par 5 lapins. La technique d'OUCHTERLONY réclame des boîtes de Pétri et une gélose spéciale coulée dans ces boîtes.

Opérations

4 lapins ont subi simultanément une « hyperimmunisation » par voie intraveineuse auriculaire d'*Alevaire forte* à la dose de 1 ml tous les 8 jours pendant 2 mois, soit 8 injections. La saignée complète a été opérée deux jours après la dernière charge « antigénique ».

Le sérum recueilli a été mis en présence de l'*Alevaire forte* selon la méthode d'OUCHTERLONY en cupules creusées dans une gélose préparée spécialement à dilutions variables (pur, 1/2, 1/4, 1/10, 1/20) le sérum et l'« antigène ».

Par ailleurs, 1 lapin a reçu 12 injections intraveineuses de 0,5 ml répétées tous les 2 jours puis saigné à blanc.

Son sérum a été traité de la même manière.

Résultats

Aucune ligne de précipitation n'est apparue entre les cupules renfermant l'éventuel antigène contenu dans l'*Alevaire forte* et le sérum de lapin préparé vis-à-vis de cet « antigène ». L'*Alevaire forte* ne supporte donc aucun caractère antigénique et ne peut entraîner d'accidents immunologiques après traitements répétés et absorption par la muqueuse bronchique.

Ces essais n'ont toutefois porté que sur l'éventuel pouvoir précipitant de l'*Alevaire*. D'autres techniques immunologiques, telles celles de l'hémagglutination passive ou de la fixation du complément pourraient compléter cette expertise.

II. - POUVOIR ANAPHYLACTOGÈNE ET ALLERGÈNE

Principe

L'*Alevaire forte* pourrait montrer un pouvoir anaphylactogène et allergène fâcheux à la fois en raison de son utilisation répétée et de son indication chez des sujets prédisposés aux manifestations allergiques (asthmatiques par exemple).

La sensibilisation et le déchaînement par l'*Alevaire forte* ont été effectués chez le cobaye, à beaucoup près l'espèce la plus sensible.

Matériel

Les animaux sont constitués par 10 cobayes de 500 à 600 g.

Opérations

La sensibilisation des 10 cobayes s'est effectuée grâce à l'inoculation intradermique en plusieurs points de 0,5 à 1 ml d'*Alevaire forte* puis mise en observation pendant 3 semaines. Le déchaînement a été opéré de deux manières, afin de séparer :

— le *pouvoir anaphylactogène* éventuel sur 5 cobayes, grâce à l'inoculation du produit par voie intracardiaque à température de 37° à la dose de 2 ml injectée lentement.

— et le *pouvoir allergène* éventuel sur 5 cobayes, grâce à l'injection intradermique de 0,2 ml du produit sous test.

Résultats

Ni les 5 cobayes déchaînés par voie cardiaque, ni les 5 cobayes soumis à l'intradermotest n'ont révélé de modification générale ou locale. Aussi peut-on conclure que l'*Alevaire forte* ne possède aucun pouvoir anaphylactogène ou allergène révélé par la technique ici utilisée.

DEUXIEME PARTIE

ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE

Les recherches pharmacologiques ont porté sur quatre domaines différents :

CHAPITRE I. — *Le pouvoir pro-infectieux ou anti-infectieux propre vis-à-vis des germes bactériens divers, principalement pneumotropes, dont le bacille tuberculeux.*

CHAPITRE II. — *Le pouvoir bronchosécréteur et bronchoconstricteur ou bronchodilatateur.*

CHAPITRE III. — *Le pouvoir hémolytique et leucocytaire.*

CHAPITRE IV. — *Le pouvoir mucolytique et abaisseur de la tension superficielle et de la viscosité.*

CHAPITRE I

I. - POUVOIR PRO-INFECTIEUX ET ANTI-INFECTIEUX

Principe

Par sa composition, l'*Alevaire forte* risque de présenter à la fois un pouvoir :

- *pro-infectieux*, grâce au pouvoir mouillant de la supérinone qui pourrait alors, à l'égal du Tween 80, procurer des cultures plus abondantes et plus homogènes sur les bactéries, en particulier le bacille tuberculeux ou grâce à la glycérine tri-alcool métabolisable par de nombreuses espèces bactériennes, en particulier le bacille tuberculeux.
- *anti-infectieux*, grâce à l'appartenance chimique antiseptique de la supérinone (composés du phénol, détergents, ammoniums quaternaires) et à la présence de 5 % de glycérol, triol antiseptique.

Ces deux actions peuvent du reste s'opposer en partie. Elles sont dignes d'intérêt pour apprécier une substance utilisée dans le traitement d'infections pulmonaires.

I. - Pouvoir anti-infectieux

Matériel

Le matériel utilisé a été celui, classique, des antibiogrammes sur plaques gélosées grâce à la technique des cupules de FLEMING, soit : des boîtes de Pétri, de la gélose bactériologique sur une épaisseur de 4 mm, un emporte-pièce permettant de forer des cupules de 1 cm de diamètre, des cultures microbiennes et des pipettes Pasteur ou rateaux de verre.

Opérations

5 gouttes de la solution d'*Alevaire forte* et des deux solutions témoins précédemment préparées ont été incluses dans les 5 cupules creusées dans chaque boîte de Pétri. Chaque boîte de Pétri avait été au préalable ensemencée à l'aide de 3 gouttes de culture en bouillon de 24 heures, étalées au rateau de verre, de *Staphylococcus aureus*, de *Escherichia coli* et de *Bacillus anthracis*.

— Les dilutions de 3 solutions ont été : pur 1/2, 1/4, 1/8, 1/10 afin d'apprécier quantitativement l'éventuelle inhibition des cultures bactériennes.

Résultats

Aucun cerne d'inhibition n'est apparu autour des cupules emplies d'*Alevaire forte* et de *supérinone* aux diverses dilutions, sur chacune des 3 espèces bactériennes : staphylocoques, colibacille et bacille du charbon.

En revanche, la solution témoin contenant du *glycérol* à 5 % *pure* a déterminé un cerne d'inhibition de 2 cm de diamètre vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Escherichia coli*.

Ainsi, au moins sur ces deux espèces et à 5 %, la solution témoin glycerinée présente un effet inhibiteur, non retrouvé dans le produit complet *Alevaire forte*, comportant cependant 5 % de glycérol également. Aussi peut-on en inférer que l'effet antiseptique du glycérol a été annihilé par un effet pro-infectieux de la *supérinone*, hypothèse à vérifier dans l'expérimentation ultérieure.

II. - Pouvoir pro-infectieux

Matériel

Le matériel utilisé consiste dans des cultures, en bouillon ordinaire, de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Bacillus anthracis*, *Streptococcus pyogenes* C et en milieu de DUBOS, de *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis* souche HRV27.

Ces milieux de cultures ont été additionnés, avant ensemencement, d'*Alevaire forte*, de supérinone à 1,25 % et du témoin glycérine 5 % + bicarbonate 2 % — à différents taux d'opacité des tubes de culture, — donc la rapidité et la luxuriance de la culture — a été appréciée par néphélométrie, à l'aide d'un photomètre, par comparaison avec le tube témoin non ensemencé et les mêmes cultures additionnées d'eau physiologique stérile dans les mêmes proportions.

Matériel

Des tubes à essais spéciaux ont été utilisés pour effectuer ces cultures, qui ont été appréciées au photomètre de Jouan (« Spectral Junior ») à tourelle spéciale, donnant une gamme entre 350 et 750 millimicrons sous une tension de 110 volts.

Résultats

Deux ordres de résultats sont à préciser :

1° CULTURES DE STAPHYLOCOQUE, DE COLIBACILLE, DE BACILLE CHARBONNEUX ET DE STREPTOCOQUE (tableau n° 1) en milieu additionné d'*Alevaire forte* et pour une addition de 10 % deux témoins.

Il est possible d'en conclure, aux erreurs d'expérience et de lecture près :

1) *qualitativement*, les cultures hétérogènes (bacille charbonneux, streptocoque) ont tendance à donner des cultures plus homogènes et plus abondantes dans les cultures additionnées d'*Alevaire forte* et du témoin *glycérol*.

2) *quantitativement*, la supérinone ne paraît ni accélérer ni intensifier la culture des germes dans l'expérience rapportée ; au contraire, elle aurait plutôt tendance à freiner cette culture. En revanche la glycérine paraît être au début (jusqu'à la 8^e heure de culture) un facteur empêchant, puis ensuite un élément stimulateur de croissance.

Enfin, l'*Alevaire forte* participe de ces deux actions contradictoires, mais paraît suivre synchroniquement l'action inhibitrice puis stimulatrice légère de la glycérine.

TABLEAU N° 1

Néphélométrie à temps variable de diverses cultures microbiennes pures
ou additionnées d'Alevaire forte ou des témoins

Germes	Temps	0 h.	5 h.	8 h.	24 h.	32 h.	72 h.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Témoin	45	55	60	89	105	120
	+ Alevaire	44	55	62	90	99	100
	+ Superinone	42	52	55	85	92	100
	+ glycérine	43	50	50	100	120	150
<i>Escherichia Coli</i>	Témoin	48	67	73	100	110	135
	+ Alevaire	40	65	70	120	120	150
	+ Superinone	46	67	70	85	105	120
	+ glycérine	45	68	75	160	150	150
<i>Bacillus anthracis</i>	Témoin	46	55	62	89	105	120
	+ Alevaire	45	55	65	95	99	110
	+ Superinone	44	52	58	65	90	100
	+ glycérine	48	50	50	100	120	150
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Témoin	42	43	48	95	105	120
	+ Alevaire	43	50	54	95	110	140
	+ Superinone	49	44	46	89	100	120
	+ glycérine	37	48	50	120	135	150

Ainsi se confirme l'action inhibitrice anti-infectieuse précoce dévolue à la *glycérine* à 5 % contenue dans l'*Alevaire forte*, déjà observée précédemment. En outre, se développe une action également anti-infectieuse légère due à la *supérinone*. Au contraire, une légère stimulation bactérienne apparaît à la phase ultime de la croissance bactérienne.

L'aspect quantitatif de ces résultats demeure au total légèrement favorable à l'*Alevaire forte*, dotée d'un très léger pouvoir stimulateur de la croissance microbienne sur le colibacille et le streptocoque, inhibiteur au contraire sur le staphylocoque et le bacille charbonneux.

2° CULTURE DE BACILLES TUBERCULEUX en milieu de Dubos, après addition de 10 % d'*Alevaire forte* ou des deux témoins supérinone et glycérol.

Si l'on excepte une très légère homogénéisation des cultures, l'inhibition ou la stimulation ne paraît pas très sensible et quantitativement masquée par les erreurs d'expérience.

La faible action de l'*Alevaire forte* sur le bacille tuberculeux est confirmée :

— par la difficulté de *coloration à froid* du bacille tuberculeux grâce à l'incorporation de 10 % de supérinone à la solution de fuchsine de Zielh ; toutefois la mise en évidence des bacilles acidorésistants est possible et signale le produit comme un *mouillant*, qui serait favorable à l'antibiothérapie *in situ* de la tuberculose pulmonaire par aérosols.

— par l'impuissance de l'*Alevaire forte* à *modifier la réaction tuberculinique* du cobaye expérimentalement sensibilisé (4 mmg de bacilles tués par la chaleur inoculés trois semaines auparavant par voie intramusculaire), dans les conditions du titrage classique de tuberculine sur cobayes albinos de 500 g. Ainsi, l'*Alevaire forte* ne paraît ni antiallergique, ni antihistaminique dans le cadre de la tuberculose.

CHAPITRE II

II. - POUVOIR BRONCHOSÉCRÉTEUR ET BRONCHOMOTEUR

(bronchoconstricteur ou bronchodilatateur)

TOLÉRANCE RESPIRATOIRE

Principe

Dans le dessein d'apprécier les réactions respiratoires immédiates à l'inhalation d'une dispersion aérosol d'Alevaire forte, il a été procédé aux tests suivants :

- 1° modifications de la respiration chez l'animal *non anesthésié* (lapins et cobayes) inhalant durant 20 minutes, dans un caisson de 10 litres environ, 6 ml de liquide transformé en aérosols dans une colonne de Halpern (débit/mn = 10 litres) donnant des particules de 1μ de diamètre moyen ;
- 2° modifications de la respiration chez l'animal *non anesthésié*, mais trachéotomisé, dans les mêmes conditions ;
- 3° effets sur le tonus broncho-moteur du lapin *anesthésié* d'une inhalation artificielle d'air contenant un brouillard d'aérosols correspondant à environ 0,2 ml de liquide dispersé dans 10 litres d'air (débit/mn de la ventilation artificielle = 1,5 litre) ;
- 4° effets sur la pression artérielle chez le lapin dans les mêmes conditions et dans le cas d'une injection intra-veineuse directe.

Dans chaque test envisagé, les résultats obtenus avec l'Alevaire forte ont été comparés à celle d'une solution dite « témoin » ne contenant que 5 % de glycérol et 2 % de

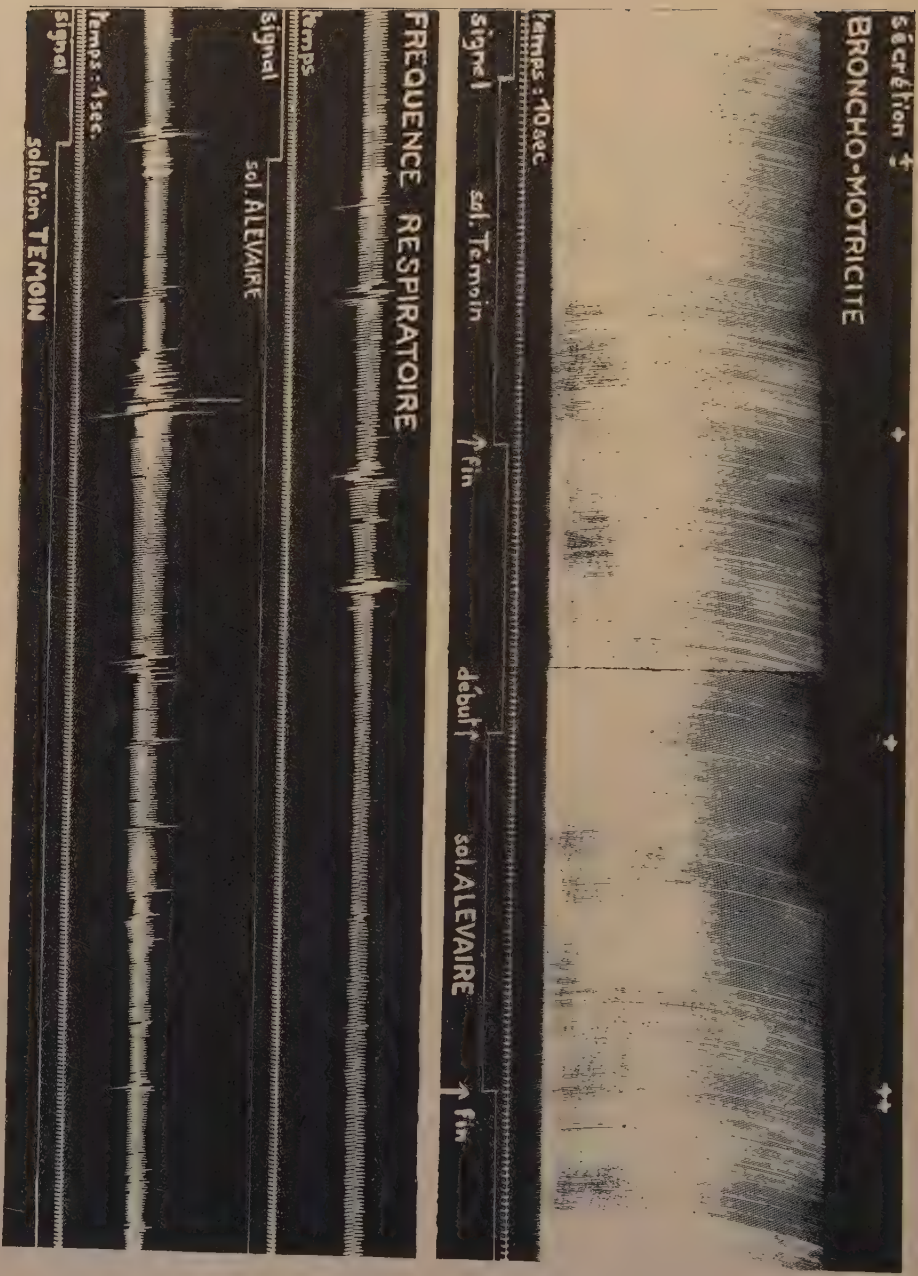


Fig. 2 - TONUS BRONCHO-MOTEUR : effet de la solution ALEVAIRE (en haut) chez un lapin de 4,150 kg anesthésié. PLETHYSMOGRAPHIE CORPORELLE : effet de solution ALEVAIRE (en bas) chez un cobaye de 350 gr non anesthésié.

bicarbonate de sodium et ceux d'une solution de chlorure de sodium à 9 p. 1.000. Le protocole suivi permet d'évaluer l'éventuelle irritation des premières voies respiratoires (comparaison des tracés chez l'animal non anesthésié normal ou trachéotomisé), d'apprécier le pouvoir bronchodilatateur ou bronchoconstricteur à partir d'un tonus bronchique normal, de prévoir les réactions du sujet dans le cas d'un passage direct à travers l'alvéole pulmonaire dans le système circulatoire (effets de l'injection intraveineuse). Il n'autorise, en revanche, aucune conclusion sur la tolérance à long terme : les examens n'ayant porté que sur les *effets immédiats* de la solution.

Cette expérimentation se propose de déterminer si l'*Alevaire forte* n'est pas capable de déterminer une constriction bronchique, qui serait très défavorable dans le traitement aérosol d'infections ou d'affections thoraciques surtout d'origine allergique. En outre, elle vise à mesurer la sécrétion bronchique qui, trop abondante, pourrait encombrer les bronches et s'opposer au but recherché en aérosolthérapie.

I. - Tolérance respiratoire

Opérations

Elles ont consisté dans l'enregistrement pléthysmographique corporel.

Résultats

L'examen des tracés de pléthysmographie corporelle chez 6 cobayes et 3 lapins (fig. 2) montre une parfaite tolérance à l'inhalation massive de la solution. Les animaux tolèrent parfaitement un brouillard prolongé dans leur caisson, sans manifester aucun accès de toux, aucun éternuement (cobaye), sans présenter même de bradycardie (lapin). Il n'est pas rare d'observer une respiration très régulière comme le montre le tracé du bas de la figure 2.

Après trachéotomie, on ne constate aucune modification notable de la respiration à l'inhalation de la solution. Tous les

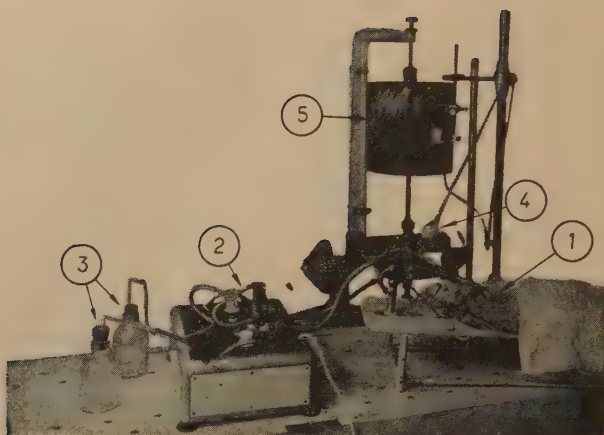
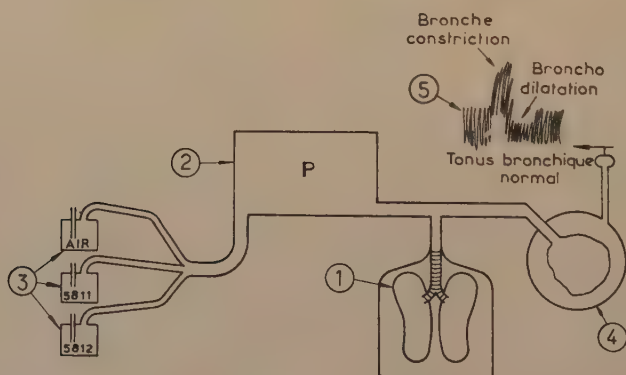


PHOTO N° 3

Dispositif d'enregistrement de la bronchomotricité chez le lapin

- En 1. - Sujet d'expérience anesthésié (chloralose uréthane) en décubitus dorsal.
- En 2. - Pompe à respiration artificielle (Shuller).
- En 3. - Flacons en relations avec la pompe, par l'intermédiaire d'un robinet à voies multiples.
- En 4. - Système élastique enfermé dans un récipient dont les conditions de déformation sont voisines du système pulmonaire vrai.
- En 5. - Tambour enregistreur.



SCHEMA N° 4 correspondant à l'appareil reproduit par la photo n° 3



PHOTO n° 5. — Le tracé obtenu sur le tambour enregistreur montre que, vis-à-vis du tonus bronchique normal N, le produit 5812 est broncho-constricteur et le produit 5917 broncho-dilatateur.

animaux supportent absolument de façon passive les aérosols, qu'il s'agisse de la solution témoin ou de l'*Alevaire forte*.

II. - Effets broncho-moteurs

Opérations

En raison de la forte pénétration dans l'appareil pulmonaire de brouillards d'aérosols secs (de 1 à 3 microns de diamètre), il importe de connaître parfaitement les effets bronchomoteurs immédiats de l'inhalation de ces particules. La contractilité des muscles bronchiques est explorée chez l'animal entier de la façon suivante. La respiration spontanée de l'animal étant remplacée par une respiration artificielle, la technique consiste à dériver une partie de l'air pulsé par la pompe dans le système pulmonaire vers un système élastique (préservatif) placé dans un récipient étanche relié à une ampoule de Marey. Cette technique a l'avantage d'exiger seulement, après anesthésie, la mise en place d'une canule trachéale ou d'une sonde à ballonnet. En outre, dans les conditions satisfaisantes d'équilibre entre le système pulmonaire et le système élastique, elle permet d'enregistrer les contractions rythmiques des muscles bronchiques ainsi qu'une broncho-dilatation provoquée d'emblée par des agents dilatateurs (tracé descendant). *A fortiori*, de très faibles doses d'acétyl-choline ou d'histamine, de même que l'excitation mécanique du vagus, sont capables de modifier les tracés avec indication d'une forte broncho-constriction (photo n° 3, schéma n° 4 ; photo n° 5 donnée à titre indicatif) [*].

Le même dispositif expérimental, en raison de la transparence des canules, permet d'évaluer grossièrement l'intensité des sécrétions bronchiques. La mise en place d'une canule souple sous radioscopie dans une bronche secondaire permet,

(*) Détail de cette technique permettant la mesure des variations du calibre des voies respiratoires à partir d'un tonus bronchique normal, in :

Y. RUCKEBUSCH et M. RUCKEBUSCH, *C. R. Soc. Biol.* 1959, 153, p. 1055.

Y. RUCKEBUSCH et J. BOST, *J. Physiol.* Paris, 1961, 53, p. 467.

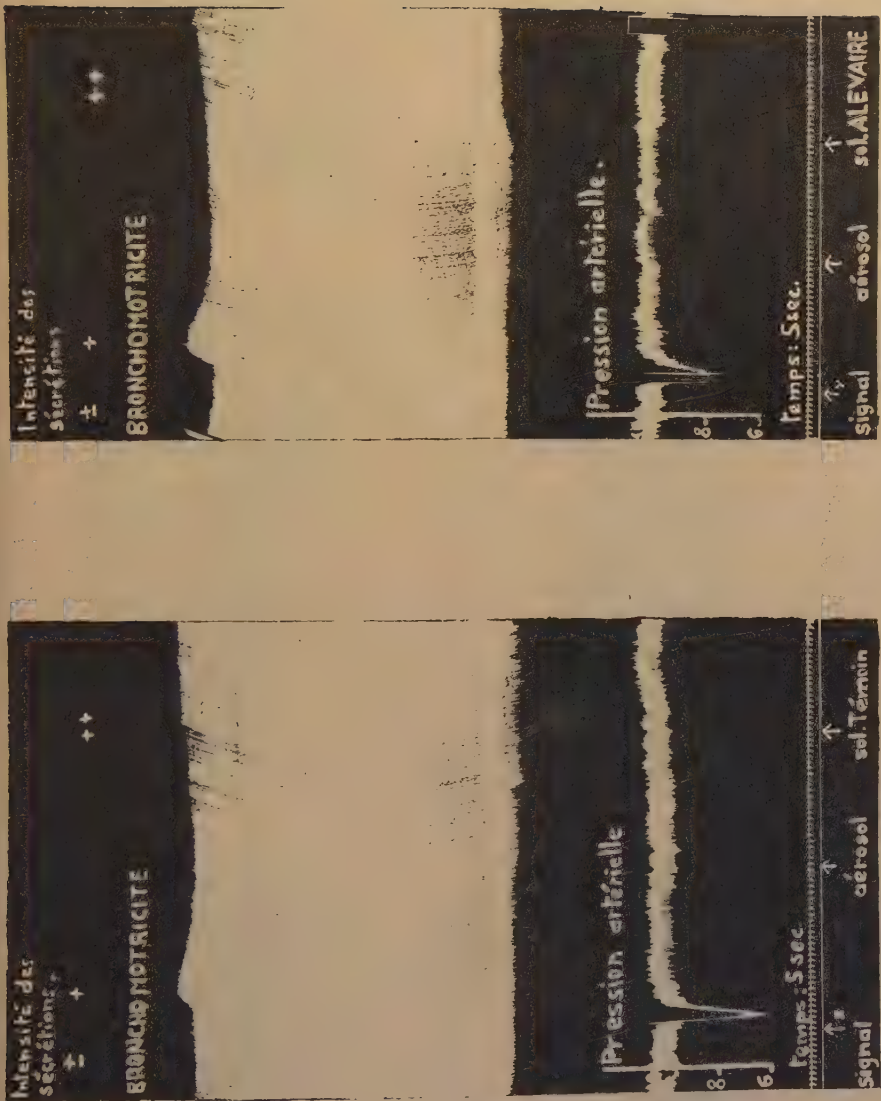


Fig. 6 - PRESSION ARTÉRIELLE et TONUS BRONCHO-MOTEUR chez un Lapin de 3,350 kg, anesthésié au chloralose - uréthane.

EFFET de l'INHALATION d'AÉROSOLS (Solution Témoïn et Solution ALEVAIRE)

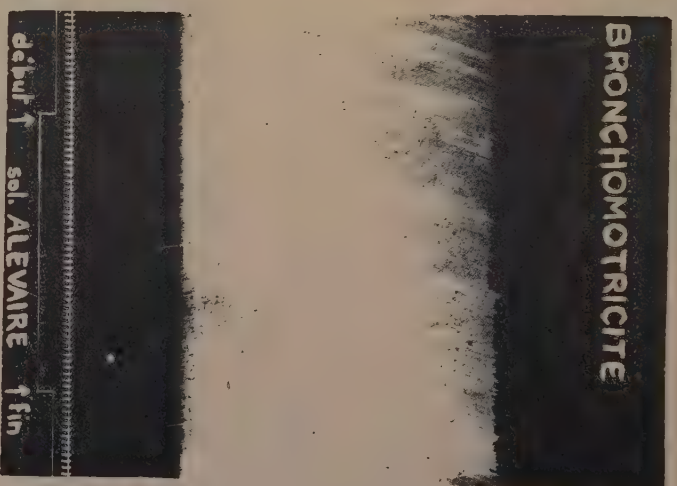
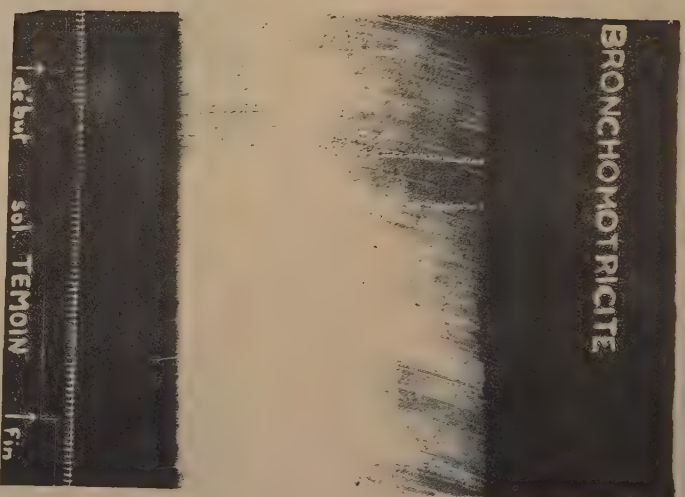
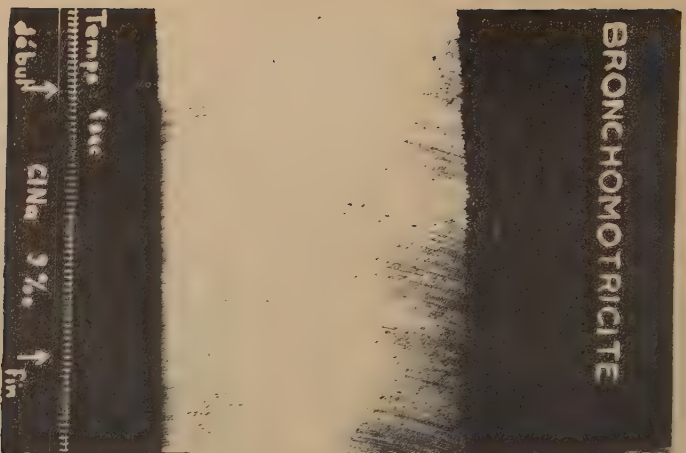


Fig. 7 - RÉPONSES BRONCHOMOTRICES chez un Lapin de 2 kg, anesthésié, dont la réactivité est très forte.

- EFFETS D'UN AÉROSOL de CINa à 9 p. 1000 de solution témoin et de solution ALEVAIRE.

en conjuguant la canule avec une capsule de Marey, d'enregistrer les variations de volume d'un lobe pulmonaire non soumis directement au contact des particules sèches. L'apparition de sécrétion bronchique minime entraîne immédiatement des perturbations dans la transmission pneumatique ; il se manifeste alors une irrégularité du tracé. Ce procédé est nettement plus sensible que le simple examen visuel ; il permet d'évaluer avec sécurité l'importance du pouvoir *broncho-sécréteur*.

Résultats

1) VIS-A-VIS D'UN TONUS BRONCHIQUE NORMAL, on constate que la solution témoin élève progressivement le tonus au bout de 3 minutes. L'*Alevaire forte* provoque un effet absolument identique chez 7 lapins (fig. 6). La pression artérielle n'est pas modifiée durant le même temps (lapins n° 1, 2, 3, 4 et 7).

L'inhalation durant 20 minutes de l'une ou l'autre solution dispersée sous forme d'aérosols n'est pas suivie de réactions plus intenses.

Dans le cas d'un sujet présentant une réactivité exceptionnellement élevée (lapin n° 5), il apparaît que la solution témoin 5 % glycérol - 2 % de bicarbonate de sodium est plus bronchoconstrictrice que celle d'une solution de chlorure de sodium à 9 p. 100 (fig. 7). Ce cas, extrêmement favorable à l'étude des modifications les plus minimes, ne permet pas cependant d'objectiver une différence quelconque entre la solution témoin et celle contenant 1,25 % de supérinone. Dans des conditions optimales d'équilibre, l'enregistrement des variations du calibre des voies respiratoires (lapin n° 6) montre que la solution témoin exerce néanmoins une action bronchomotrice : elle fait apparaître au bout de 2 à 4 minutes un tonus bronchomoteur, qui va persister durant 13 à 20 minutes. Ce phénomène qui témoigne indirectement de l'absence de pouvoir bronchoconstricteur rend compte d'une augmentation de la motricité bronchique. L'*Alevaire forte* provoque le même effet : celui-ci

cependant est rapidement masqué par l'augmentation des sécrétions bronchiques.

2) LE POUVOIR BRONCHOSÉCRÉTEUR est discret mais néanmoins existant. En dépit de la difficulté de chiffrer les résultats, il apparaît nettement que les sécrétions bronchiques (toujours augmentées en riposte à une inhalation d'un aérosol chez l'animal) sont plus importants dans le cas de l'inhalation de l'*Alevaire forte*. Les effets s'observent au bout de 3 minutes et persistent au-delà d'une heure. Les conditions expérimentales ne permettent pas de présumer des effets de l'inhalation prolongée de fortes doses. Néanmoins, la parfaite tolérance respiratoire chez le sujet normal ou trachéotomisé autorise la conclusion d'un pouvoir bronchosécréteur non excessif — ou du moins sans danger pour l'animal.

III. - Effets tensionnels

Opérations

Elles ont consisté dans l'enregistrement de la tension artérielle.

Résultats

Les effets tensionnels, inexistants par voie respiratoire, restent faibles par voie intraveineuse directe.

Chez le lapin (lapins n° 2 et n° 3), l'injection intraveineuse rapide de 0,5 ml de la solution témoin provoque une chute de la pression artérielle de 3 mm de mercure, durant 10 secondes. La dose de 1 ml provoque le même effet.

La solution *Alevaire forte* provoque une chute tensionnelle un peu plus accusée : 10 mm de mercure pour 0,5 ml, 15 mm de mercure pour 1 ml, 20 mm pour 2 ml. La durée de l'hypotension n'excède jamais 15 secondes.

CONCLUSIONS

Administrée à dose massive chez le cobaye et le lapin en expérimentation aiguë, la solution *Alevaire forte* est parfaitement tolérée sous la forme d'une dispersion aérosol en raison de :

l'absence d'irritation des premières voies respiratoires chez 3 lapins et 8 cobayes respirant durant 20 minutes dans un caisson de 10 litres une atmosphère renouvelée chaque minute et contenant 5 ml de solution dispersée dans 200 litres d'air ;

la discrétion de l'effet bronchomoteur et l'absence de tout pouvoir bronchoconstricteur chez 7 lapins sous respiration artificielle, dont le débit est voisin de 1,5 l/mn et la concentration de 0,2 ml de solution pour 10 litres d'air ;

la faiblesse des effets tensionnels qui avec l'ALEVAIRE FORTE se montrent toutefois nettement plus accusés que ceux de la solution témoin. L'hypotension dans *le seul cas* de l'ALEVAIRE FORTE varie avec la quantité de liquide injecté dans les limites de 0,5 à 2 ml chez les lapins de 3 kg environ.

CHAPITRE III

III. - POUVOIR HÉMOLYTIQUE ET LEUCOLYTIQUE

Principe

Il est digne d'intérêt d'être informé du pouvoir éventuel de dégradation des globules rouges et blancs par le produit sous test. Si ce pouvoir était vérifié, il serait fâcheux d'utiliser un support d'aérosols hémolytique ou s'opposant à la phagocytose, dans le traitement des pneumopathies.

Matériel

Les *globules rouges* de lapin, de mouton et d'homme ont été obtenus par saignée et incorporées après lavage à de la gélose (hémolyse en milieu solide) ou mis en suspension dans de l'eau physiologique (hémolyse en milieu liquide).

Les *globules blancs* ont été au contraire prélevés dans l'exsudat péritonéal de rats ayant reçu au préalable une injection de bouillon bactériologique, stérile et vierge, dans le péritoine.

Opérations

L'hémolyse a été interrogée sur plaques gélosées au sang par la méthode des cupules et la leucolyse sur lame, avec lecture microscopique, selon la technique de l'*index opsonique*.

Résultats

1° HÉMOLYSE.

Sur plaque gélosée aux hématies de lapin, de mouton ou d'homme à 10 %, aucune hémolyse nette n'est apparue, même pour l'*Alevaire forte* ou la solution témoin supérinone utilisées pures.

Quelquefois, une très légère clarification se manifeste sans hémolyse vraiment appréciable.

2° LEUCOLYSE.

Après 3 heures d'étuve en milieu humide à 37°, aucune raréfaction des globules blancs n'a été enregistrée. Au contraire, par rapport aux témoins et vis-à-vis du staphylocoque, il semble que le pouvoir phagocytaire ait été très légèrement stimulé, sans doute en raison du pouvoir mouillant léger que présente l'*Alevaire forte*.

Ainsi, l'*Alevaire forte* n'est ni hémolytique ni leucolytique et paraît par surcroît légèrement opsonisante, propriété qui ne peut que favoriser l'action *in vivo* de l'*Alevaire forte* dans les infections pulmonaires.

CHAPITRE IV

IV. - POUVOIR MUCOLYTIQUE ABAISEUR DE LA TENSION SUPERFICIELLE ET DE LA VISCOSITÉ

Principe

Il importe d'apprécier expérimentalement sur produits muqueux naturels (crachats humains) et sur mucine bactériologique, le pouvoir mucolytique, base de l'activité du support d'aérosols.

L'appréciation de la *tension superficielle* s'est adressée à la *méthode stalagmométrique* avec comptage du nombre de gouttes formées par unité de volume de liquide. L'appréciation de la *viscosité* s'est adressée à une méthode dérivée de la *méthode d'Ostwald* avec mesure du temps nécessaire à l'écoulement de 0,9 ml dans un tube de verre calibré (pipette de précision).

I. - Sur crachats humains

Opérations

Les solutions de supérinone à 1,25 % et de glycérol 5 % + bicarbonate de soude 2 % ont été étudiées comparativement à l'eau distillée.

Les échantillons de crachats humains tuberculeux bruts, soumis à l'agitation mécanique à secousses à 20° C pendant 4 heures, bruts ou additionnés d'*Alevaire* et des deux témoins à 1/2, 1/4 et 1/5 ont été étudiés comparativement à un étalon intermédiaire constitué par un mélange à volumes égaux de glycérine officinale et d'eau distillée (densité 1,1) dont la tension superficielle et la viscosité avaient été préalablement déterminées par rapport à l'eau distillée.

Il a été ainsi possible d'établir directement :

- 1) la tension superficielle et la viscosité A_g et V_g , relatives à l'eau glycinée, des échantillons ;
- 2) la tension superficielle et la viscosité A_r et V_r relatives à l'eau distillée des solutions de supérinone et de glycérol à 5 % et de l'étalon glyciné et indirectement, par le calcul, la tension superficielle et la viscosité A et V absolues de tous les échantillons, en prenant, pour l'eau distillée :

Tension superficielle 73 dynes/cm
 Viscosité 1 centipoise
 grâce aux formules $A = 73 A_r$ et $V = V_r$ (en centipoises).

Toutes les mesures ont été effectuées à la température de 20° C et sous n° 1 de référence correspondant à des échantillons de nature inconnue.

Calculs

N et N_g désignant respectivement les nombres de gouttes données par le compte-gouttes utilisé avec les liquides étudiés et l'étalon glyciné, d et d_g les densités respectives, on a :

$$A_g = \frac{N_g}{N} \cdot \frac{d}{d_g} \quad \text{soit} \quad A_g = \frac{20}{N}$$

puisque avec le compte-gouttes retenu on avait $N_g = 22$, avec $d_g = 1,1$ et d (densité des mucus) pris égal à 1.

t et t_g désignant respectivement les temps nécessaires à l'écoulement de 0,9 ml des échantillons et de l'étalon glyciné on a :

$$V_g = \frac{t_g}{t} \cdot \frac{d_g}{d} \quad \text{soit} \quad V_g = \frac{0,061}{t} \quad \text{avec} \quad t_g = 15 \text{ sec.}$$

Les tensions superficielles et viscosités A_g et V_g relatives à l'étalon glyciné ont été ensuite converties en tensions superficielles et viscosités absolues A et V par les formules :

$A \text{ (dynes/cm)} = A_g \times \text{tension superficielle de l'étalon glyciné relativement à l'eau} \times 73$;

$V \text{ (centipoises)} = V_g \times \text{viscosité de l'étalon glyciné relativement à l'eau} \times 1$,

les caractéristiques de l'étalon glyciné ayant été déterminées (avec celles des solutions de supérinone et de glycérol à 5 %) par rapport à l'eau distillée et suivant les mêmes méthodes.

Résultats

Les détails de ces opérations sont indiqués dans les tableaux 8 et 9.

Tous les résultats obtenus ont été réunis dans le tableau récapitulatif 10.

TABLEAU N° 8
Mesures relatives à l'étalon glyciné

Echantillons		Nombre de gouttes pour 0,9 ml	Temps d'écoulement en secondes	Tension superficielle relative: Ag	Viscosité relative Vg
Crachats + Alevaire forte au :	Crachats bruts	22	150	0,91	9,5
	1/5	21	40	0,95	2,4
	1/2	—	9	0,80	0,55
	1/4	21	20	0,95	1,2
Crachats + eau distillée au :	1/5	19	15	0,86	0,93
	1/2	18	12	0,81	0,73
	1/4	22	26	0,91	1,7
Crachats + Superinone à 1,25 % au :	1/5	21	57	0,95	3,5
	1/2	22	29	0,91	1,7
	1/4	22	76	0,91	4,6
Crachats + glycérol 5 % et bicarbonate de soude 2 % au :	1/5	22	600	0,91	36
	1/2	18	19	0,81	1,1
	1/4	22	600	0,91	36
Etalon glyciné		Ng = 22	tg = 15	1	0,93

TABLEAU N° 9

Mesures effectuées relativement à l'eau
et résultats exprimés directement en unités absolues

Solutions	Nombre de gouttes pour 0,9 ml	Temps d'écoulement en secondes	Tension superficielle (dynes/cm)	Viscosité centipoises
Superinone 1,25 % ..	50	37	moins de 51	1
Glycérol 5 % + bicarbonate 2 %	35	38	73	1
Etalon glycériné	38	131	74	5,9
Eau distillée	35	37	73	1

TABLEAU N° 10

Viscosité et tension superficielle exprimées
en valeur absolue : centipoises et dynes/cm

Echantillons	Viscosité (centipoises)	Tension superficielle (dynes/cm)
Superinone 1,25 %	1	51
Glycérol 5 % + bicarbonate 2 %	1	73
Crachats bruts	36	66
	1/5	9,4
Crachats + Alevaire au	1/2	2,2
	1/4	4,7
	1/5	3,6
Crachats + eau distillée au	1/2	2,8
	1/4	6,6
	1/5	13,6
Crachats + Superinone à 1,25 % au	1/2	3,6
	1/4	18
	1/5	14
Crachats + glycérol 5 % + bi- carbonate de soude 2 % .. au	1/2	14,7
	1/4	11
Eau	1	73
Eau glycérinée	3,9	74

Il ressort de la lecture de ces tableaux :

- 1° Le caractère *hétérogène* des résultats, tenant sans doute à l'hétérogénéité des crachats bruts, base de l'expérience.
- 2° L'efficacité réelle de l'*Alevaire forte* et de la *supérinone* à 1,25 % pour diminuer la viscosité et la tension superficielle des crachats humains mais non supérieure à celle procurée par la simple adjonction d'eau distillée.
- 3° L'élévation de la viscosité après adjonction de glycérol à 5 %.
- 4° La faiblesse de l'effet du produit sur la tension superficielle, donc la *discrétion de son effet mouillant*.

— Ces résultats sont confirmés par l'échec de la recherche et de la culture du bacille tuberculeux dans les crachats infectés traités par l'*Alevaire forte*. En effet, par rapport aux techniques classiques de recherche et d'homogénéisation du bacille et à celle utilisant des aérosols de trypsine (voir article et bibliographie de LUCE J.-P., HUBERT J. et LUCE M., *Presse Médicale* 1961, 69, 2, 453), le traitement des crachats par l'*Alevaire forte* n'a pas procuré d'avantages tangibles.

Enfin, l'*Alevaire forte* ne présente pas d'effets de diffusion notables après addition du produit à une solution de trypan bleu à 1 % par voie intradermique chez le cobaye albinos, par rapport au témoin.

II. - Sur mucine

A l'aide de la méthode décrite précédemment, l'influence de l'*Alevaire forte* sur la tension superficielle et la viscosité d'une solution de *Mucine bactériologique* a été expérimentée.

Une solution aqueuse de mucine bactériologique au titre de 4 g par litre a été préparée.

Trois séries de 7 tubes contenant 10 ml de cette solution ont été additionnées respectivement de :

0	0,05	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6 ml
---	------	-----	-----	-----	-----	--------

- d'*Alevaire* dans la première série (A),
- d'une solution de *supérinone* au titre de 1,25 % dans la seconde série (S),
- d'une solution aqueuse de glycérine à 5 % et de bicarbonate de soude à 2 % dans la troisième série (T).

Chacun des 21 tubes ainsi préparés a été additionné de la quantité d'eau distillée nécessaire pour porter le volume total à 11,6 ml.

Ont été ensuite déterminés par la méthode déjà indiquée :

- 1) les nombres des gouttes N obtenues pour 2 ml de solution ;
- 2) les temps d'écoulement correspondants t exprimés en secondes.

Résultats

Les résultats sont portés dans le tableau suivant :

Temps en secondes t	u	0	0,05	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6
	A	49,25	49,6	56	56	54	59	60,5
	S	65,50	51,5	52	56	56	55,5	—
	T	54	61	69	59,3	54	70	63,5
Nombre de gouttes N								
	A	43,5	44	45	44	46	45,5	46
	S	41,5	43	45,5	45	44	45	45
	T	43,5	41	40	40,5	40	41	40,5

Conclusions

L'examen des données numériques de ce tableau conduit aux conclusions suivantes :

1) la *viscosité* de la solution de mucine bactériologique augmente avec la quantité d'*Alevaire* ajoutée. Elle diminue quand la teneur en *supérinone* augmente (série S). Elle augmente parallèlement à la quantité de solution témoin

(série S). Ainsi apparaît-il assez nettement que l'Alevaire contient deux principes qui agissent à l'inverse l'un de l'autre :

— la supérinone qui diminue la viscosité,

— la glycérine qui l'augmente,

l'action globale de l'Alevaire est la résultante de ces deux actions, soit une augmentation finale de la viscosité.

2) la *tension superficielle* est diminuée par l'Alevaire et la supérinone, puisque le nombre de gouttes augmente dans les deux séries (A et S) avec la quantité de substance ajoutée.

La solution T, au contraire, semble augmenter, mais faiblement, la tension superficielle. On peut remarquer encore une action antagoniste de la glycérine et de la supérinone. La résultante de ces deux actions consiste cette fois en une diminution de la tension superficielle.

En résumé, vis-à-vis de la solution de mucine bactériologique, et aux concentrations indiquées, l'Alevaire *augmente faiblement la viscosité et diminue la tension superficielle*. Les deux constituants principaux du médicament (supérinone et glycérine) semblent exercer une action antagoniste l'un sur l'autre.

Au total, le *pouvoir mucolytique* recherché par l'Alevaire forte *existe mais demeure faible*.

TROISIEME PARTIE

ÉTUDE CLINIQUE

CHAPITRE I. — *Travaux antérieurs en médecine humaine.*

CHAPITRE II. — *Appareil générateur d'aérosols.*

CHAPITRE III. — *Protocole thérapeutique.*

CHAPITRE IV. — *Les malades.*

OBSERVATIONS CLINIQUES :

1. — *Affections respiratoires aiguës.*

2. — *Affections respiratoires chroniques.*

RÉSULTATS DE NOS OBSERVATIONS. — DISCUSSION.

CHAPITRE I

TRAVAUX ANTÉRIEURS EN MÉDECINE HUMAINE

Le support, que nous nous proposons d'étudier sur le plan clinique vétérinaire, fut le sujet de nombreuses observations en clinique et en chirurgie humaines, principalement aux Etats-Unis.

Ces observations portent sur trois utilisations principales de ce détergent mucolytique : en pédiatrie, chez l'adulte et en chirurgie.

En Pédiatrie, RAVENEL insiste sur les résultats obtenus par l'Alevaire dans les obstructions bronchiques du nouveau-né et du prématuré ; les travaux de HIDALGO, LINO et QUINTOS montrent son efficacité dans les dyspnées graves du tout-petit.

Chez l'adulte et le vieillard, la fluidification des sécrétions et des expectorations bronchiques fut obtenue grâce à l'Alevaire dans le traitement de diverses maladies respiratoires aiguës ou chroniques.

En Chirurgie, dans le traitement et la prévention des complications post-opératoires, SADOVE et ses collaborateurs ont utilisé cette thérapeutique pendant deux ans avec succès et sans remarquer d'irritation de la muqueuse. MC. CABE l'utilise dans le même but en instillations dans la trachée à l'aide d'un cathéter endotrachéal percutané.

Nos observations en médecine vétérinaire seront plus limitées. Nous nous sommes bornés à étudier l'Alevaire forte seule dans le cas de bronchite chronique du chien, en tant que support d'aérosols antibiotiques dans le cas de maladies respiratoires aiguës du chien et du chat.

CHAPITRE II

APPAREIL GÉNÉRATEUR D'AÉROSOL

L'aérosolisateur utilisé (Hygienic N.C.) était un appareil compresseur, de pression 1,300 kg, débit 6 litres d'air à la minute.

Le réchauffement à 45° est obtenu en mettant au bain-marie le réservoir de « trop-plein ».

Les particules émises sont sèches, leur diamètre est de l'ordre de 1 μ .

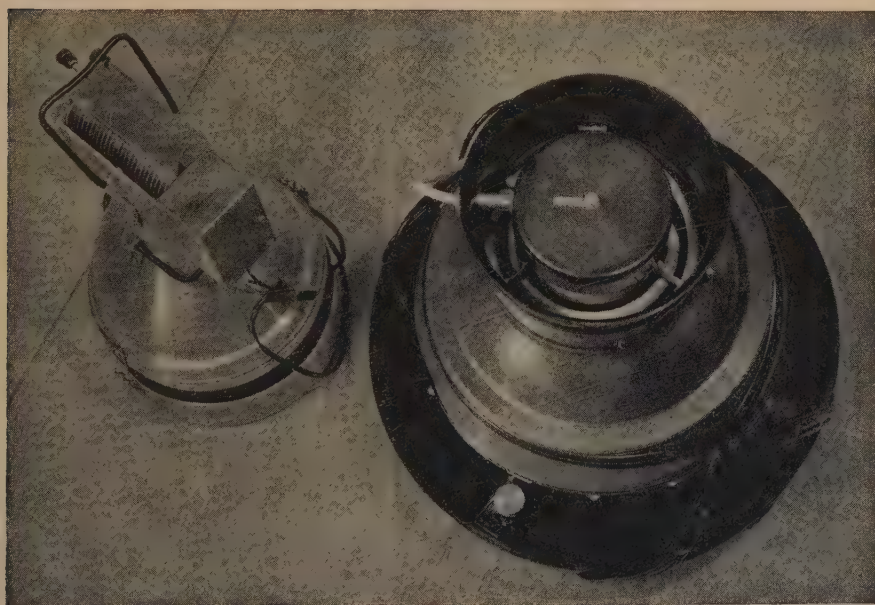


PHOTO n° 9

Brumisateur force centrifuge avec réchauffeur à 45° C
(Diamètre des particules = 1 μ)

CHAPITRE III

PROTOCOLE THÉRAPEUTIQUE

La contention des animaux fut obtenue, pour les chiens, en décubitus latéral sur une table où ils se trouvaient attachés. Un masque en matière plastique, type Gauchard, fabriqué par nos soins, enveloppait toute la tête et était attaché au niveau de la nuque.

Les chats furent placés dans une boîte dont le couvercle comportait un orifice pour l'introduction d'un tube en caoutchouc.

La désinfection

du masque et de la boîte était réalisée, après lavage, par une solution d'ammoniums quaternaires à la dilution de 1 p. 1.500.

Durée et nombre des séances

Les séances duraient de 15 à 20 minutes pendant lesquelles étaient aérosolisés 2 à 3 ml de la solution aérosol.

Il ne nous était pas possible de faire plusieurs séances dans la même journée. Les propriétaires amenaient chaque jour leur animal pour le traitement, pendant 5 à 6 jours consécutifs.

Solution aérosol

Le détergent bronchique fut aérosolisé soit isolément, soit conjointement à des antibiotiques. Il s'agissait habituellement de la streptomycine ou de la néomycine dans les rapports suivants avec l'Alevaire forte :

Streptomycine	1 g
Alevaire forte	5 ml
Néomycine	750 mg
Alevaire forte	3 ml

La première solution est stable 24 heures, la deuxième solution pendant 14 jours.

CHAPITRE IV

LES MALADES

- 2 cas de bronchite capillaire.
- 5 cas de maladie de Carré — forme respiratoire.
- 1 cas de trachéo-bronchite.
- 2 cas de coryza chez le chat.
- 4 cas de bronchite chronique chez le chien.

Un traitement par voie générale a toujours été associé au traitement par aérosol.

Nous avons apprécié l'effet de la thérapeutique sur un certain nombre de critères :

- Importance et qualité de la dyspnée.
- Etat de l'expectoration : facilité, quantité, viscosité.
- Données de l'examen clinique : râles, courbe thermique.
- Impression des propriétaires.
- Comparaison avec les résultats obtenus dans la guérison d'affections identiques au cours des mois de novembre et décembre 1962.

OBSERVATIONS CLINIQUES

I. - Affections respiratoires aiguës

OBSERVATION N° 1 : Bronchite capillaire.

M. Dédoni, 19, avenue C..., Marseille.

"Tan", chienne beauceron, 3 ans.

Lorsque la chienne nous est présentée, nous constatons :

- température : 40°4 ;
- jetage purulent ;
- toux quinteuse, fréquente ;
- dyspnée intense accompagnée d'un souffle labial ; du tirage costal.
- A l'auscultation, nous entendons des râles crépitants.

Un traitement est institué par voie générale : l'animal reçoit 1 million — 1 gramme de bipénicilline-streptomycine —, une ampoule de Cithymène (préparation balsamique à base d'essence de citron), 500 mg de vitamine C, 40 ml de sérum physiologique tiède.

L'aérosol administré (Alevoire et streptomycine) est bien supporté pendant une dizaine de minutes, au bout desquelles l'animal a une crise de suffocation. L'accès terminé, nous achevons normalement l'aérosol.

Le deuxième jour, la température est de 39°9, avec disparition du souffle labial. Le jetage est plus fluide. Même traitement général, le deuxième aérosol est bien supporté pendant 20 mn.

Au troisième jour, nous constatons que le jetage de purulent est devenu muqueux. La fièvre est tombée à 39°5. La dyspnée a disparu. A l'auscultation, nous percevons des râles ronflants. Malgré l'amélioration, un troisième aérosol est administré.

Le quatrième jour, la température est de 38°4 : température normale ; persistance de quelques râles, jetage muqueux.

L'animal reçoit un aérosol d'Alevoire seul.

Nous ne reverrons le chien que six jours plus tard, entièrement guéri.

OBSERVATION N° 2 : *Forme respiratoire* et digestive de la maladie de Carré.

M. Penone, traverse Callelongue, Marseille.

"Diane", griffon femelle, 15 mois.

L'animal nous est présenté car il présente depuis trois jours des vomissements et une diarrhée profuse, ainsi que de la toux. Sa température est de 37°7, il présente également une conjonctivite intense, un jetage muqueux important. Sa toux est quinteuse, avortée.

La chienne reçoit en premier lieu :

- 100 mg d'auréomycine par voie intraveineuse,
- 10 ml de sérum homologue,
- sérum physiologique.

L'aérosol, identique à celui de la première observation, est bien supporté pendant 25 minutes.

L'animal recevra encore quatre aérosols, grâce auxquels les symptômes respiratoires régressent complètement.

Malheureusement, en raison des frais occasionnés par le traitement, le propriétaire décide de sacrifier son animal.

OBSERVATION N° 3 : Maladie de Carré. Forme respiratoire.

M. Perasso, Saint-Tronc, Marseille.

Epagneul breton, mâle, 18 mois.

Ce chien tousse depuis environ dix jours, lorsqu'il nous est présenté. Il est dans un état de maigreur extrême et ne mange plus depuis deux jours.

Les données de l'examen clinique sont les suivantes :

- température : 39°,9 ;
- conjonctivite purulente ;
- jetage muco-purulent, respiration dyspnéique, souffle labial ;
- râles crépitants.

Nous administrons au chien : 10 ml de sérum homologue par voie intraveineuse ; 1 g de Kamycine, qui sera répété pendant cinq jours. L'aérosol (Néomycine et Alevaire) est très bien supporté. A partir du troisième jour, le souffle labial a disparu, la dyspnée est moins intense. Après le cinquième jour, nous ne ferons plus que trois aérosols répartis en cinq jours (un jour sur deux). A la fin de ce traitement, l'animal est entièrement guéri.

OBSERVATION N° 4 : Maladie de Carré. Forme respiratoire.

M^{me} Martin, rue Emile-Zola, Marseille.

"Bari", griffon mâle, 12 mois.

Lorsqu'il nous est présenté, l'animal présente : une température de 39°,4, une conjonctivite purulente, un jetage muco-purulent, une toux quinteuse douloureuse, avortée. A l'auscultation, nous entendons de nombreux râles, la plupart crépitants.

Cet animal nous est confié une journée entière, au cours de laquelle il recevra trois aérosols (Néomycine - Alevaire) de 15 minutes chacun. Il recevra un aérosol les trois jours suivants.

Il est traité par Kamycine : 1 g, sérum homologue, sérum physiologique.

Le jetage muco-purulent a disparu au bout de la quatrième séance d'aérosol. La propriétaire continue à administrer à son animal un sirop à base de tétracycline, le traitement par aérosol étant interrompu.

OBSERVATION N° 5 : Trachéo-bronchite.

M. Bonomi, boulevard Rey, Marseille.

Ténériffe, 18 mois.

Le chien présenté pour vaccination présente une température de 39°8, une conjonctivite purulente, un jetage muqueux et des râles crépitants à l'auscultation.

Il reçoit une injection de bipénicilline-didromycine et 25 mg de vitamine C, ainsi qu'un aérosol Alevaire et streptomycine. Cet animal, demeurant à proximité du cabinet, viendra deux fois par jour recevoir un aérosol. Après le cinquième aérosol, l'état de l'animal s'est bien amélioré, l'appétit est revenu. Au bout du huitième aérosol, il est entièrement guéri.

OBSERVATION N° 6 : Coryza.

Chat siamois, 3 ans.

Ce chat présentait un coryza typique, avec catarrhe oculo-nasal muco-purulent. Sa température était de 39°6.

Le chat reçoit 250.000 unités de pénicilline-retard, du sérum physiologique et de la vitamine C.

Dans les heures suivant l'aérosol (Néomycine - Alevaire), le propriétaire a remarqué une augmentation de jetage. En trois jours, au cours desquels il reçoit des aérosols, le chat est entièrement guéri.

OBSERVATION N° 7 : Coryza.

M^{me} Blanc, Marseille.

Chat race commune, 8 mois.

Lorsque la propriétaire nous amène son animal, celui-ci est très atteint. Sa température est de 40°3, il présente un catarrhe oculo-nasal purulent. Il faudra cinq séances d'aérosol pour établir une amélioration. Au bout de huit jours, la guérison est complète.

L'animal a été traité un jour sur deux par de la pénicilline-retard.

OBSERVATION N° 8 : Maladie de Carré. Forme pulmonaire.

M. Lanzone, Marseille.

"Nora", braque français femelle, 2 ans $\frac{1}{2}$.

Cet animal nous est présenté le 25 février 1963. Sa température rectale est de 39°5, ses yeux sont purulents, sa toux est quinteuse, avortée. Il reçoit : une ampoule de Cithymène, 10 ml de sérum homologue par voie intraveineuse, 1 million - 1 gramme de bipénicilline-dihydrostreptomycine.

Le 27 février, nous n'observons aucune amélioration. La température est de 39°5, l'auscultation révèle des râles crépitants. Nous administrons 100 mg d'auréomycine par voie intraveineuse.

Le 1^{er} mars, l'état de l'animal s'est aggravé et nous décidons de soumettre celui-ci à des aérosols Alevaire forte - Néomycine. Il reçoit, en outre, 0,30 g de Novarsénobenzol par voie intraveineuse. Pendant quatre jours consécutifs, la chienne recevra un aérosol.

Le 4 mars, l'appétit est revenu, la température est tombée à 39°5. L'animal reçoit 0,15 g de Novar et 1 g de Kamycine.

Le 6 mars, les râles ont disparus, le jetage nasal est muqueux. Nous administrons du sérum hétérologue par voie sous-cutanée.

La chienne est dès lors entièrement guérie, sa température rectale se maintenant en-dessous de 39°.

OBSERVATION N° 9 : Bronchite capillaire.

M^{me} Grandemange, Marseille.

Chat race commune, 1 an.

Ce chat, déjà soigné pour un coryza en novembre 1962, présente à la suite d'une fugue de plusieurs jours, un jetage purulent, une température de 39°,8 et, à l'auscultation, des râles ronflants. Il reçoit 250.000 unités de pénicilline-retard, 20 ml de sérum physiologique.

Pendant trois jours, ce chat recevra les mêmes quantités d'antibiotiques et un aérosol médicamenteux, Alevaire - Néomycine.

Le quatrième jour, son état général est satisfaisant et ne nécessite aucun traitement.

II. - Affections respiratoires chroniques

OBSERVATION N° 10.

M. Jiami, Marseille.

Loulou femelle, 13 ans.

Cette chienne souffre depuis trois ans d'une bronchite chronique. Celle-ci ne s'améliore nullement malgré les traitements.

Depuis début janvier, l'animal est en proie à des accès de suffocation.

Du 4 au 15 février, le sujet recevra sept aérosols d'Alevaire seule. Ces aérosols sont administrés l'animal debout. Nous devons les interrompre toutes les quatre à cinq minutes. Aucune amélioration ne se manifeste au cours du traitement.

L'animal meurt le 22 février, dans une crise nocturne.

OBSERVATION N° 11.

M. Bernard, Marseille.

"Sicki", Ténériffe mâle, 11 ans.

Cet animal présente une toux rauque et un œdème mousseux au fond de la gorge. A l'auscultation, des crépitements, d'où le diagnostic de bronchite chronique.

Il est soumis à une série d'aérosols tous les deux jours, six au total. La toux semble diminuer d'intensité lors des premières séances. A la fin du traitement, l'auscultation pulmonaire n'est pas modifiée.

OBSERVATION N° 12.

M. Baquié, Marseille.

Chienne pointer, 7 ans.

Cette chienne présente, outre une bronchite chronique à son début, une métrite chronique qui nous incite à l'opération. Celle-ci est pratiquée le 13 février. L'urée sanguine est de 1,60 g par litre. Nous redoutons, d'autre part, les complications pulmonaires et les difficultés respiratoires lors du décubitus dorsal au cours de l'opération. Pour pallier ces complications pulmonaires postopératoires, nous avons administré, à l'instar de Sanove et de ses collaborateurs, des aérosols d'Alevaire forte. L'animal a reçu un aérosol les trois jours précédant l'opération et un le matin de celle-ci. Au total, quatre aérosols de 2 ml d'Alevaire forte.

L'animal a bien supporté l'anesthésie et le décubitus dorsal.

Aux dires du propriétaire, il respirerait mieux.

RÉSULTATS DE NOS OBSERVATIONS

DISCUSSION

Résultats favorables

- Amélioration importante dès les premiers aérosols dans toutes les affections aiguës, avec amélioration de la dyspnée et disparition du souffle labial, fluidification du jetage, amoindrissement des râles.

Résultats défavorables

- Echec : un cas (observation n° 10).
- Aucune amélioration des bronchites chroniques chez le chien.

Discussion de nos résultats

Dans tous les cas d'affections aiguës il existait un traitement général concomitant, les aérosols, ayant pour support médicamenteux l'Alevaire forte ne représentaient qu'un traitement adjuvant. On pourrait nous alléguer que le traitement général seul aurait pu fournir les mêmes résultats que ceux que nous avons obtenus.

Nous avons comparé nos résultats à ceux obtenus pour des affections identiques, soignées au cours des mois de novembre et décembre 1962. Malgré les conditions atmosphériques défavorables en janvier et février 1963, la guérison a été obtenue plus rapidement chez les sujets ayant reçu des aérosols médicamenteux. La fluidification du jetage par l'Alevaire évite la stagnation des mucosités dans les bronches et par là l'aggravation de l'infection primitive.

Avec Y. RUCKEBUSCH, nous pourrions conclure que l'aérosolthérapie représente la voie idéale pour l'obtention « d'effets locaux pulmonaires ». La voie aérienne constitue, en regard de

la thérapeutique des affections pulmonaires, la seule capable de réaliser une concentration élevée de l'agent pharmacodynamique au niveau des conduits trachéobronchiques, ainsi qu'une surface de contact importante en raison de la ténuité des particules constituanes.

De plus, la facilitation de l'expectoration et la désinfection de l'arbre aérifère contribuent à la rapidité de l'amélioration clinique du patient.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

I. — L'ÉTUDE TOXICOLOGIQUE d'un nouveau support d'aérosol, solution de supérinone, dénommée « Alevaire forte », a montré :

- 1° Que *l'Alevaire forte* ne présente aucune toxicité *primaire aiguë* ou *chronique* chez la souris, le cobaye, le lapin, le hamster, le furet, le chien, le chat, le porc, la vache et le singe par les voies conjonctivale, nasale, bronchique, orale, cutanée, intradermique, sous-cutanée, intramusculaire, intrapéritonéale, intra-veineuse.
- 2° Que *l'Alevaire forte* ne présente aucune toxicité *secondaire* d'ordre immunologique ou allergologique.

II. — L'étude pharmacologique de ce produit a montré :

- 1° Que *l'Alevaire forte* présente des propriétés anti-infectieuses discrètes tenant vraisemblablement à la présence de glycérol en solution à 5 %, mais aussi des propriétés légèrement bactério-stimulantes tardives vis-à-vis de certaines espèces bactériennes (*St. aureus*, *B. anthracis*).
- 2° Que *l'Alevaire forte* ne présente aucun *pouvoir hémolytique* ni *leucolytique*, mais se montre légèrement *opsonisante*.
- 3° Que *l'Alvaire forte* ne manifeste pas un *pouvoir mucolytique considérable*, et qu'elle modifie plus profondément la viscosité que la tension superficielle du mucus bronchique et de la mucine.

III. -- L'ÉTUDE CLINIQUE de ce produit en thérapeutique des affections respiratoires aiguës ou chroniques chez le chien et le chat a montré :

- 1° Que l'*Alevaire forte*, seule ou en association avec des antibiotiques, est bien tolérée sous forme d'aérosol chez ces espèces.
- 2° Que l'*Alevaire forte*, dans le traitement des *pneumopathies aiguës*, où il existait un jetage abondant et épais, l'amélioration de la dyspnée, la fluidification du jetage, la disparition du souffle labial, l'amoin-drissement des râles bronchiques.
- 3° Qu'en revanche dans le traitement de la *bronchite chronique* et de ses complications chez le chien (affec-tions sèches) nous n'avons obtenu que des résultats négatifs.

Vu :

Le Directeur de l'Ecole Nationale,
Vétérinaire de Lyon
R. FLORIO

Le Professeur Responsable de l'Ecole
Nationale Vétérinaire de Lyon
L. JOUBERT

Le Président de la Thèse
Pr. MOÑNET

Vu et permis d'imprimer :

Lyon le 18 Mai 1963

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université :
M. P. LOUIS

BIBLIOGRAPHIE

- ANNOTATION AÉROSOL - DÉTERGENTS. — *Britt. Med. Journ.*, 1954, 6, 325.
- BAKER-BATES (E.J.) et GADMAN (E.F.B.). — *The Practitioner*, 1955, 175, 736.
- BLAKE (N.J.). — *Canadian Med. Ass. Journ.*, 1955, 72, 766.
- BOUR (H.), SCHAISON (G.), DUROUX (P.). — *Semaine des Hôpitaux*, 1962, 4, 141.
- BRUNS (P.D.) et SHIELIES (L.V.). — Sur les membranes hyalines produites sous forte pression d'oxygène. *Am. Journ. Obst. Gynec.*, 1954, 67, 1224.
- CAMARATA (S.J.). — *Dis. Chest.*, 1956, 29, 588.
- FARBER (S.M.), BENIOFF (M.A.) et SMITH (J.D.). — *Calif. Med.*, 1955, 82, 102.
- FEFFER (J.J.) et MAN (J.P.). — *Postgradua Med.*, 1956, 19, 332.
- FINKE (W.). — *Pract. Dig. Treat.*, 1954, 5, 150.
- FISHER (R.J.W.). — *The Practitioner*, 1955, 195, 700.
- FOLEY (F.E.). — *Dis. Chest.*, 1956, 29, 433.
- FRANK (D.E.). — *Ann. Allergy*, 1955, 13, 313.
- GANS (B.). — *Lancet*, 1954, 15, 1001.
- GATTEFOSSE (M.). — *Bull. Technique*, 1962, 59, 69.
- GAY (J.R.). — *Pennsylvania Med. Journ.*, 1957, 69, 61.
- GODDARD (R.F.) et ROOBACH (E.M.). — *Journ. Am. Med. Ass.*, 1957, 165, 1125.
- HAMPTON (S.F.). — *Missouri Med.*, 1957, 54, 229.
- HEINDBERG (C.J.). — *South. Med. Journ.*, 1957, 50, 383.
- HENRICKSON (W.N.). — *Miss. Med.*, 1954, 31, 202.
- HEYWORTH (N.), SANFORD. — *Ped. Clin. North America*, 1954, 1, 573.
- HIDALGO (Gloria). — *Philippine Journ. Ped.*, 1955, 4, 68.
- HOWLETT KELLENER (W.), MEDLOCK (J.M.), POWEL (D.G.B.). — *Lancet*, 1956, 14, 68.
- KARTAGENER (M.). — *Médecine et Hygiène Zurich*, 1961, 496, 239.
- MCCABE (R.), REID (W.M.), KNOX (W.J.). — *Annals of Surgery*, 1962, 156, 5-8.
Abstract paru dans : *La Presse Médicale*, 1963, 71, 17.
- MENEFEE (E.E.). — *Virginia Med.*, 1957, 34, 53.
- MILLER (J.B.), BROWN (L.L.), GOLDFARB (P.M.), LEIGH (M.), Mac VAY (L.),
PHILIPS (S.C.), SELLERS (D.F.) et EINMAN (H.).
- MILLER (J.B.). — *Am. Journ. Dis. Child.*, 1952, 84, 616.
Amer. Acad. Opht. Otol., 1957, 8, 360.
- MILLER (J.B.) et BROWN (L.). — *Ann. All.*, 1954, 12, 611.
- MILLER (J.B.). — *Journ. Am. Med. Ass.*, 1955, 157, 1665, et 1955, 159, 738.
- MCCLEMONT (W.M.F.). — *Britt. Med. Journ.*, 1956, 25, 1484.
- OSWALD (N.C.). — *Lancet*, 1954, 15, 271.

- PICAL (P.J.), ALBERT (M.), FRIES (J.) et SHERMAN (W.B.). — *New York State Journ. Med.*, 1956, 15, 910.
- RAVENEL (S.F.). — *Journ. Americ. Med. Ass.*, 1953, 28, 707.
- RIGAL (C.). — *Thèse Doct. Vét.*, Lyon, 1962.
- ROLAND (P.E.) et WRIGHT (P.C.) — *Journ. Laryng. Otol.*, 1958, 72, 8.
- RUBEN (J.E.), JAMISON, EUGENE, WILLIAM et RAO. — *Anesthesiologie*, 1955, 16, 801.
- SADOVE (M.S.). — *Journ. Am. Med. Ass.*, 1954, 156, 759.
- SADOVE (M.S.), MILLER (C.E.) et SHIMA (A.T.). — *Journ. Amer. Med.*, 1954, 156, 759.
- SEGAL (M.S.) et ATTINGER (F.). — *Am. Journ. Surg.*, 1955, 89, 387.
- SILVERMAN (W.A.). — *Journ. Amer. Med. Ass.*, 1955, 157, 1093.
- SMESSAERT (A.), COLLINS (V.J.) et KRACUM (V.D.). — *New York Journ. Med.*, 1955, 55, 1587.
- SHELDON (J.M.). — *Geriatrics*, 1954, 9, 193
- STEPHEN (O.R.). — *Anesth. Anal.*, 1956, 35, 320.
- TAINTER (M.) et NACHOD (F.C.) et BIRD (J.G.). — *New England Journ. Med.*, 1955, 253, 764.
- THOMASHEFSKI (J.F.) et TCHEN (P.A.). — *Am. Rev. Tuberc.*, 1955, 72, 479.
- VINCENT (D.), KRACUM et COLLINS (V.J.). — *New York Journ. Med.*, 1954, 54, 1083.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	1
INTRODUCTION	2

PREMIERE PARTIE

ETUDE TOXICOLOGIQUE	3
CHAPITRE I. — Toxicité primaire	7
— II. — Toxicité secondaire	13

DEUXIEME PARTIE

ETUDE PHARMACOLOGIQUE	17
CHAPITRE I. — Pouvoir pro-infectieux ou anti-infectieux	21
— II. — Pouvoir bronchosécréteur et broncho- stricteur ou bronchodilatateur	27
— III. — Pouvoir hémolytique	39
— IV. — Pouvoir mucolytique, abaisseur de la tension superficielle et de la viscosité.	41

TROISIEME PARTIE

ETUDE CLINIQUE	49
CHAPITRE I. — Travaux antérieurs en médecine humaine	53
— II. — Appareil générateur d'aérosols	55
— III. — Protocole thérapeutique	57
— V. — Les malades	59
OBSERVATIONS CLINIQUES	61
RÉSULTATS DE NOS OBSERVATIONS. — DISCUSSION	65
CONCLUSIONS GENERALES	67
BIBLIOGRAPHIE	69

